

札幌医誌 61 (4) 267~277 (1992)

段階的腎摘高血圧ラットの昇圧機転に関わる内因性 digitalis 様因子及び腎 prostaglandin 系の役割

大 本 泰 裕 島 本 和 明 増 田 敦

札幌医科大学内科学第2講座 (主任 飯村 攻 教授)

Role of Endogenous Digitalis Like Factor and Renal Prostaglandins on Hypertensive Mechanism in Reduced Renal Mass Hypertensive Rats

Yasuhiro OHMOTO, Kazuaki SHIMAMOTO and Atsushi MASUDA

Department of Internal Medicine (Section 2), Sapporo Medical College

(Chief: Prof. O. IIMURA)

ABSTRACT We have previously reported that 5/6 reduced renal mass rats (RRM), a model of volume dependent hypertension, show blood pressure elevation and continuous increase of urinary endogenous digitalis like factor (EDLF) excretion compared to 4/6, 3/6 RRM and sham operated rats (Sham). On the other hand, urinary prostaglandin (PG) E₂ was observed to rise at about the same rate in 5/6 and 4/6 RRM. The roles of EDLF and renal PGE₂ were investigated in order to clarify the pathogenesis of the high blood pressure observed in 5/6 RRM.

The effect of chronic intraperitoneal infusion of ouabain (0.05 mg/kg/day) for 14 days on systolic blood pressure (SBP) and urinary sodium excretion (UNaV) was investigated in 4/6 RRM and Sham. No change in SBP was observed in either 4/6 RRM with vehicle, or Sham with vehicle. In the ouabain treated groups, significant SBP elevation (126 ± 4 to 158 ± 8 mmHg; $p < 0.05$) was observed in 4/6 RRM, but not in Sham. Four-sixths RRM treated with ouabain maintained an augmented urinary sodium excretion, which was significantly higher than in 4/6 RRM with vehicle ($p < 0.05$). There was a significant positive correlation between SBP and UNaV ($p < 0.01$). Therefore, it appears that in 4/6 RRM, which show impaired renal sodium handling though their blood pressure remains within the normal range, the observed blood pressure elevation and augmentation of urinary sodium excretion may be due to the suppression of the Na-K-ATPase activity by ouabain.

The effect of chronic intraperitoneal administration of indomethacin (6 mg/kg/day) for 14 days on SBP, urinary PGE₂ excretion and UNaV was also evaluated in 4/6 RRM and Sham. In the indomethacin treated groups, significant SBP elevation (119 ± 4 to 144 ± 5 mmHg; $p < 0.05$) was observed in 4/6 RRM, but not in Sham. No change in SBP was observed in either 4/6 RRM with vehicle, or Sham with vehicle.

There was a significant negative correlation between the change in SBP and that in urinary PGE₂ excretion ($p = 0.01$) in 4/6 RRM. This suggests that the augmented urinary PGE₂ excretion which was observed in 4/6 RRM may play a compensatory role for the blood pressure elevation. On the other hand, the change of UNaV in 4/6 RRM treated with indomethacin (-15.7 ± 2.7 mEq/kg/day) was significantly larger than in the 4/6 RRM treated with vehicle (-8.5 ± 1.2 mEq/kg/day) ($p < 0.05$). There was a significant positive correlation between the change of urinary PGE₂ excretion and that of UNaV ($p < 0.01$). Moreover, there was a significant negative correlation between the change of UNaV and that of SBP ($p < 0.01$). These results indicate that the inhibition of PGE₂ production in 4/6 RRM may decrease renal sodium excretion and cause elevated blood pressure.

From these data, we infer that the augmented urinary PGE_2 excretion which was observed in 4/6 RRM plays a compensatory role for impaired renal sodium handling and also blood pressure elevation.

In conclusion, increased EDLF might be an important factor in the etiology of hypertension in 5/6 RRM, and PGE_2 may play a compensatory role against elevated blood pressure.

(Received September 16, 1992 and accepted October 6, 1992)

Key words: EDLF, Prostaglandin E_2 , Hypertension, Ouabain, Indomethacin

1 緒 言

本態性高血圧症の成因は、これまでに多くの研究が積み重ねられてきたが、未だに明確な結論をえない。

著者らの教室でも、本症の成因や病態を明らかにすべく、各種の検索が進められてきた。その結果、本症患者では腎ドパミン、カリクレイン・キニン、プロスタグランジン (PG) 系の抑制がみられる^{1,2)}。この抑制は体液・Na 貯留の顕著な低レニン患者群でより強い。低レニン群では体液貯留のみならず、末梢血管抵抗の増大も著しい³⁾。しかし、交感神経系やレニン・アンジオテンシン系などの昇圧系はむしろ抑制された様態を示す。以上の所見が逐次報告されてきた。一方、最近では本症の低レニン群や食塩感受性群など、体液貯留型高血圧の成因・病態形成に、Na-K-ATPase 阻害因子である内因性ジギタリス様因子 (EDLF) の関与が示唆され^{4,5)}、教室でもこの上昇がとりわけ低レニン群で著しいことを明らかにした⁶⁾。

以上のような背景から、われわれは体液貯留型高血圧のモデルとして、段階的腎摘ラットを作製し、1%食塩水投与時の変化を検討した。その結果、5/6 腎摘ラットでは持続的な血圧、尿中 Na、尿中 EDLF 排泄の上昇をみるが、4/6 腎摘群では、尿中 EDLF の増加は一過性で、血圧の上昇も認められなかった^{7,8)}。

他方、腎の PG 系は、腎の血行動態や尿細管への直接作用を介し、水・電解質代謝を調節していることが知られている^{9,10)}。上述の腎摘ラットでは尿中 PGE_2 の排泄が有意に増加し⁸⁾、代償機転としての PGE_2 産生亢進が示唆された。

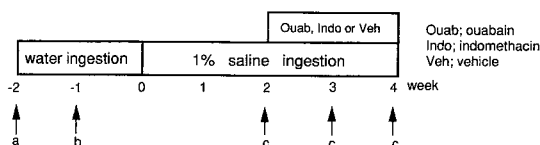
以上の成果を踏まえ、本研究では、体液貯留型高血圧の昇圧機構における、EDLF と腎 PG 系の役割を、いっそう明らかなものにすべくこころざした。すなわち、段階的腎摘ラットを用い、血圧上昇に至らない 4/6 腎摘ラットにウアバインあるいはインドメサシンを投与し、その効果を詳細に分析し、EDLF と腎 PG 系が昇圧の機転にいかにして、またどの程度関わるかを検

索した。

2 実験方法

2.1 実験材料

10 から 14 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラット (体重 160~200 g) を用い、腎機能障害モデルである 4/6 腎摘群を教室既報の方法^{7,8,11)} により作製した。すなわち、pentobarbital 麻酔下になす左腎の 1/3 切除を行ない、1 週間後に同様の条件下で右側片腎摘を施行した。手術期間中と手術完了後 1 週間は水道水を飲水させた。また、同様の条件で 2 回の偽手術を施行したものを対照群として用いた (Fig. 1)。この後、実験用メタボリックケージ (ナルゲン・メタボリックケージ 650-0100, Nalge 社, New York) に入れ、25°C 下で 1% 食塩水を 4 週間自由に飲水させた。尚、この間の飼育にはラッ



a: 1/3 resection of left kidney or sham operation
b: heminephrectomy (right) or sham operation
c: BP measurement (tail-cuff method), and urine sample collection

Fig. 1 Protocol of the experiments. For the preparation of 4/6 reduced renal mass rats (RRM) and sham operated rats, 1/3 resection of left kidney or sham operation was done in male Sprague-Dawley rats (160~200 g), following the right kidney resection or sham operation after 1 week. One week after the second operation, 1% saline ingestion was begun, and two weeks after saline ingestion, ouabain (0.05 mg/kg/day), indomethacin (6 mg/kg/day) or vehicle was administered in both 4/6 RRM or sham operated rats.

ト飼育用 MF 粉末 (Na 0.26%) (オリエンタル酵母工業株式会社, 東京) を用いた。

2.2 ウアバイン投与実験

4/6 腎摘例, 偽手術例のいずれにも, 2・1の方法に従い 1%食塩水の飲水を開始して 2 週目, pentobarbital 麻酔下, 腹腔内に浸透圧ミニポンプ (ALZET, ALZA Co., California) を植え込んだ. このミニポンプを用い ウアバイン (Sigma Chemical Co., Missouri) 0.05 mg/kg/日を 2 週間投与した^{12,13}. ウアバインは生理食塩水に溶解し, 1 日投与量を 12 μ l とした. またウアバイン投与の対照群には vehicle (生理食塩水) を投与した. つまり, 1) 4/6 腎摘+ウアバイン群 (n=9), 2) 4/6 腎摘+vehicle 群 (n=7), 3) 偽手術+ウアバイン群 (n=8), 4) 偽手術+vehicle 群 (n=8) の 4 群を作製し, 1%食塩水飲水 2 週目 (ウアバイン投与前対照期) と, ウアバインまたは vehicle 投与後の 1 週目と 2 週目に血圧と 1 日尿中 Na 排泄量を測定した. 血圧は午後 3 時から 4 時までの間に tail-cuff 法 (ラット尾動脈圧・脈拍測定装置, KN-210 型, 夏目製作所, 東京) により反復測定, 安定した時点の 5 回の収縮期血圧の平均値を用いた. 尿検体は午後 2 時からの 24 時間で採取し, 尿中 Na 濃度はイオン電極法 (島津クリニカルイオンメーター CIM-104/104A 形, 島津製作所, 京都) により測定した.

2.3 PGE₂ の役割の検討

2.3.1 インドメサシン投与実験

4/6 腎摘群, 偽手術群の各々に, 1%食塩水飲水 2 週目から 2 週間, インドメサシン (Sigma Chemical Co., Missouri) 3 mg/kg を 1 日 2 回 (AM 8:00 及び PM 6:00) 腹腔内に投与した^{14,15}. インドメサシンは投与直前に 0.5% methylcellulose に十分均一になるよう攪拌, 懸濁して調製した. またインドメサシン投与の対照群には vehicle (0.5% methylcellulose) を投与した. すなわち, 1) 4/6 腎摘+インドメサシン群 (n=6), 2) 4/6 腎摘+vehicle 群 (n=6), 3) 偽手術+インドメサシン群 (n=6), 4) 偽手術+vehicle 群 (n=6) の 4 群を作り, 1%食塩水飲水開始 2 週目 (インドメサシン投与前対照期) と, インドメサシン投与 1, 2 週目に, 血圧と 1 日尿中 Na 排泄量を測定した. また, インドメサシン投与前 (1%食塩水飲水 2 週目) と投与 2 週後に尿中 PGE₂ 排泄量を測定した.

2.3.2 尿中 PGE₂ 濃度測定法

尿中 PGE₂ は methoxyamine hydrochloride (Amersham International plc, Buckinghamshire) を用いて, 安定な methyl oximated PGE₂ に変換し, 次いで RIA 法 (prostaglandin E₂ [¹²⁵I] assay system, Amersham International plc, Buckinghamshire)¹⁶ により測定した. 標準物質には

methyl oximated PGE₂ を, また assay buffer には, 0.9% NaCl, 0.01% Triton X-100 及び 0.0057% thimerosal を含む 0.05 M Tris/HCl buffer (pH 7.4) を使用した. すなわち, 試料及び標準物質 100 μ l に assay buffer で希釈した特異抗体 100 μ l と, assay buffer で希釈した 25,000~30,000 cpm の標識抗原 100 μ l を加え, 25°C で 2 時間インキュベーションした. インキュベーション後の遊離 ¹²⁵I-methyl oximated PGE₂ と抗体結合 ¹²⁵I-methyl oximated PGE₂ の分離には, 以下に述べる二抗体法を用いた. すなわち, 試料を含有する試験管に, 250 μ l の第二抗体 (抗家兎 γ -globulin 驢馬抗体) を加え, 室温で 15 分間インキュベーション後, 3,000 rpm で 15 分間遠心分離し, 上清を吸引して, 沈殿物の放射活性を Well type auto-gamma-spectrometer (Aloca 社, 東京) で測定した.

2.4 統計学的検討方法

計測値は mean \pm SEM で表わし, 3 群及び 4 群間の有意差は, one way analysis of variance (ANOVA) を用い p < 0.05 を有意とした. また 2 群間の有意差は paired または unpaired data に対し Student の t 検定を施行, 相関関係は linear regression analysis により検討し, p < 0.05 を有意とした.

3 結 果

3.1 ウアバイン投与の成績

3.1.1 血圧値の変化

4/6 腎摘群及び偽手術群々々における, ウアバイン投与後の血圧の変化を Fig. 2 に示す. まず, ウアバイン投与 1 週目には, 4/6 腎摘群, 対照群のいずれの群においても血圧値に有意な変動はみられなかった. ウアバイン投与 2 週目には 4/6 腎摘群の血圧値が 157.6 \pm 7.5 mmHg と, ウアバイン投与前の 126.2 \pm 4.2 mmHg に比し有意 (p < 0.05) に上昇した. しかし, 4/6 腎摘+vehicle 群, 偽手術+ウアバイン群, 偽手術+vehicle 群では, ウアバインあるいは vehicle 投与 2 週目の血圧がそれぞれ 115.7 \pm 4.3 mmHg, 126.3 \pm 3.3 mmHg, 123.4 \pm 4.3 mmHg と, 投与前の 122.2 \pm 5.3 mmHg, 134.8 \pm 2.6 mmHg, 127.1 \pm 4.1 mmHg に比し有意な上昇とはならなかった. 4/6 腎摘群のウアバイン投与 2 週目の血圧値は, 他の 3 群の同じ時期の血圧に比し有意 (p < 0.05) な高値を示した.

3.1.2 尿中 Na 排泄量の変化

ウアバイン投与後の尿中 Na 排泄量の変化を Fig. 2 に示す. 4/6 腎摘群では, ウアバイン, vehicle のいずれの群においても, 投与 1 週目に有意な変動は認められ

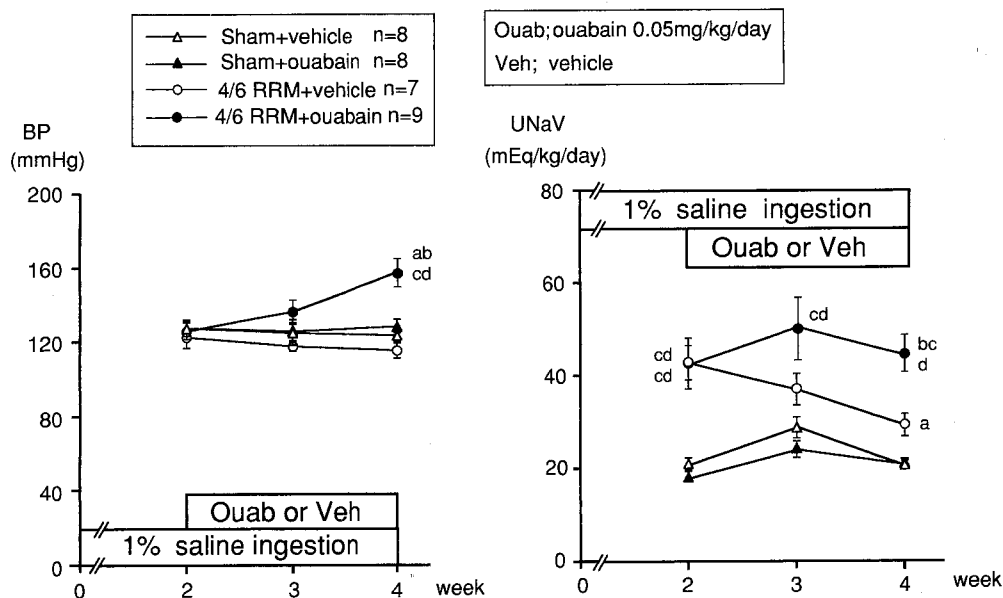


Fig. 2 Time courses of blood pressure (BP) (left panel) and urinary sodium excretion (UNaV) (right panel) in 4/6 reduced renal mass rats (RRM) with ouabain (Ouab, 0.05 mg/kg/day), 4/6 RRM with vehicle, sham operated rats (Sham) with Ouab and Sham with vehicle. Four-sixths RRM with Ouab showed a significant BP elevation at 4th week (2 weeks after Ouab) compared to the BP at 2nd week (before Ouab). Four-sixths RRM with Ouab showed significantly higher UNaV at 4th week compared to that in 4/6 RRM with vehicle. (^a $p < 0.05$, comparison of level of variable during experimental period with level at 2nd week; ^{b, c, d} $p < 0.05$, comparison of each group with the other 3 groups-^bv. s. 4/6 RRM+vehicle, ^cv. s. Sham+Ouab, ^dv. s. Sham+vehicle.)

なかった。しかし、投与2週目の vehicle 投与群では、尿中 Na 排泄量が 42.8 ± 3.7 mEq/kg/日から 29.2 ± 2.3 mEq/kg/日へと有意 ($p < 0.05$) に減少し、ウアバイン投与群は 42.6 ± 5.5 mEq/kg/日から 44.7 ± 4.0 mEq/kg/日と明らかな変化を示さなかった。ウアバイン投与群の2週目の尿中 Na 排泄量は vehicle 群のそれに比し有意 ($p < 0.05$) な高値となった。一方、偽手術群におけるウアバイン及び vehicle 投与前後の尿中 Na 排泄量は、それぞれ 18.2 ± 1.1 mEq/kg/日から 21.1 ± 0.8 mEq/kg/日及び 21.6 ± 1.6 mEq/kg/日から 22.7 ± 2.2 mEq/kg/日と、いずれも有意な変化は認められなかった。4/6 腎摘+ウアバイン群の尿中 Na 排泄量は偽手術+ウアバイン、偽手術+vehicle 両群に比し、薬剤投与前、1 週後、2 週後のすべての時点で有意な高値を示していた。また、4/6 腎摘+vehicle 群のそれは薬剤投与前のみ対照両群より、有意な高値となった。

3・1・3 血圧値と尿中 Na 排泄量、及びそれらの変化の相関

4/6 腎摘群と偽手術群を一括し、ウアバインまたは vehicle 投与前ならびに投与2週後の血圧値と、尿中 Na

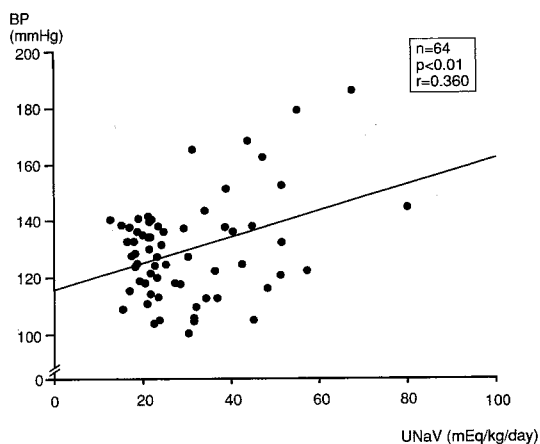


Fig. 3 Correlation between urinary sodium excretion (UNaV) and blood pressure (BP) in both 4/6 reduced renal mass rats (RRM) and sham operated rats (Sham) which received Ouab or vehicle. A significant positive correlation ($p < 0.01$) was observed between both parameters obtained at 2nd week (before Ouab) and 4th week (2 weeks after Ouab) in 4/6 RRM+Ouab, 4/6 RRM+vehicle, Sham+Ouab and Sham+vehicle.

排泄量の相関を Fig. 3 に示す. 両者の間には有意($r=0.360$, $p<0.01$)な正の相関が認められた. 一方, 上記両群(計4群)において, ウアバインまたは vehicle 投与前後の血圧値の変化度と, 尿中 Na 排泄量の変化量との関係を検討すると, 両者間に明らかな相関は認められなかった. また, 偽手術群を除く, 4/6 腎摘2群のみの検討では, 正の相関傾向($r=0.452$, $p<0.1$)が認められたが有意ではなかった.

3.2 インドメサシン投与の成績

3.2.1 血圧値の変化

4/6 腎摘群及び偽手術群々々における, インドメサシンあるいは vehicle 投与時の血圧の変化を Fig. 4 に示す. 4/6 腎摘群のインドメサシン投与1週目の血圧値は 142.8 ± 4.4 mmHg と, 投与前の 118.6 ± 4.0 mmHg に比し有意($p<0.05$)に上昇し, 2週目も 144.3 ± 4.5 mmHg と同様の血圧高値($p<0.05$)が維持された. 他の4/6 腎摘+vehicle 群, 偽手術+インドメサシン群, 偽手術+vehicle 群の3群では, それぞれ投与1週目が,

127.8 ± 4.0 mmHg, 118.1 ± 2.9 mmHg, 116.4 ± 4.7 mmHg, 2週目は 121.7 ± 1.6 mmHg, 117.0 ± 2.1 mmHg, 112.3 ± 6.1 mmHg と, 薬剤投与前の 116.7 ± 2.3 mmHg, 111.3 ± 2.2 mmHg, 115.1 ± 3.5 mmHg に比し有意な変化とはならなかった. また4/6 腎摘群のインドメサシン投与1週目の血圧値は偽手術+インドメサシン, 偽手術+vehicle の両群と, また2週目の血圧値は他の3群のその時期に比し有意な高値を示した.

3.2.2 尿中 Na 排泄量の変化

4/6 腎摘群の尿中 Na 排泄量は, インドメサシン投与前が 43.0 ± 3.5 mEq/kg/日 で, 1週目は 34.0 ± 3.3 mEq/kg/日と有意($p<0.05$)に減少し, 2週目も 27.3 ± 2.9 mEq/kg/日と前値及び1週目に比しさらに減少($p<0.05$)した(Fig. 4). 4/6 腎摘+vehicle 群では前値の 38.0 ± 2.1 mEq/kg/日に比して1週目は 32.4 ± 1.0 mEq/kg/日, 2週目は 29.4 ± 2.3 mEq/kg/日といずれも前値に比し有意($p<0.05$)な減少となったが, 1週目と2週目では有意差をみなかった. 偽手術群では

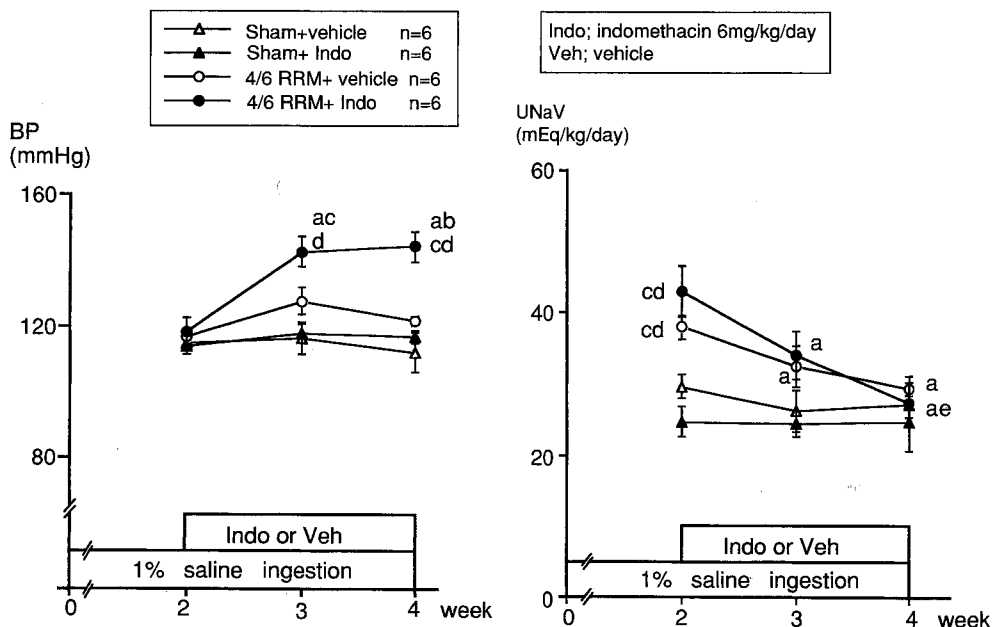


Fig. 4 Time courses of blood pressure (BP) (left panel) and urinary sodium excretion (UNaV) (right panel) in 4/6 reduced renal mass rats (RRM) with indomethacin (Indo, 6 mg/kg/day), 4/6 RRM with vehicle, sham operated rats (Sham) with Indo and Sham with vehicle. In 4/6 RRM with Indo, BP increased significantly at 3rd and 4th week (1 and 2 weeks after Indo) compared to that at 2nd week (before Indo). At 4th week, BP in 4/6 RRM with Indo was significantly higher than that of 4/6 RRM with vehicle. UNaV in 4/6 RRM with Indo or vehicle was significantly decreased at both 3rd and 4th week compared to that at 2nd week. (^a $p<0.05$, comparison of level of variable during experimental period with level at 2nd week; ^{b,c,d} $p<0.05$, comparison of each group with the other 3 groups-^bv. s. 4/6 RRM+vehicle, ^cv. s. Sham+Ouab, ^dv. s. Sham+vehicle; ^e $p<0.05$, comparison of value at end of 4th week with that at end of 3rd week.)

インドメサシン投与前が 24.7 ± 2.1 mEq/kg/日, 1 週後 24.3 ± 1.8 mEq/kg/日, 2 週後 24.6 ± 3.9 mEq/kg/日と有意な変化は認められず, vehicle 投与前は 29.6 ± 1.7 mEq/kg/日, 1 週目が 26.2 ± 2.9 mEq/kg/日, 2 週目は 27.1 ± 1.8 mEq/kg/日と, いずれも有意な変化を示さなかった (Fig. 4). そこで薬剤投与 2 週間の前後における尿中 Na 排泄量の変化量を検討すると, この減少は 4/6 腎摘でインドメサシン投与群が -15.7 ± 2.7 mEq/kg/日と, vehicle 投与群の -8.5 ± 1.2 mEq/kg/日に比し有意 ($p < 0.05$) に大であった. 一方, 偽手術群においてはインドメサシン投与前後で -0.12 ± 3.8 mEq/kg/日と, vehicle 投与前後の変化量 (-2.5 ± 2.5 mEq/kg/日) と同程度で, 有意な変化とはならなかった (Fig. 5).

3・2・3 血圧値と尿中 Na 排泄量, 及びそれらの変化の相関

4/6 腎摘+インドメサシン群と 4/6 腎摘+vehicle 群を一括し, 上述の尿中 Na 排泄量の変化量と血圧値の変化度との関係を検討した結果, 両者の間には有意 ($r = -0.707$, $p < 0.01$) な負の相関が認められた (Fig. 6). 一方, 同群において, インドメサシンまたは vehicle 投与前ならびに投与 2 週後の血圧値と尿中 Na 排泄量そのものの関係の検討では, 両者間に負の相関傾向 ($r = -0.345$, $p < 0.1$) が認められた.

3・2・4 尿中 PGE₂ 排泄量の変化

4/6 腎摘+インドメサシン群の尿中 PGE₂ 排泄量は, インドメサシン投与前の 57.8 ± 12.4 ng/kg/日に比し,

投与 2 週後のそれは 5.0 ± 0.6 ng/kg/日と著明 ($p < 0.01$) に抑制されていたが, vehicle 投与群では 45.9 ± 24.9 ng/kg/日から 35.1 ± 17.9 ng/kg/日と有意な変動を示さなかった. 次にインドメサシン, vehicle 投与前後の PGE₂ 排泄量の低下を比較すると, Fig. 7 のごとく, 4/6 腎摘群のインドメサシン投与による -52.8 ± 12.0 ng/kg/日は, vehicle 投与群の -10.8 ± 7.8 ng/kg/日

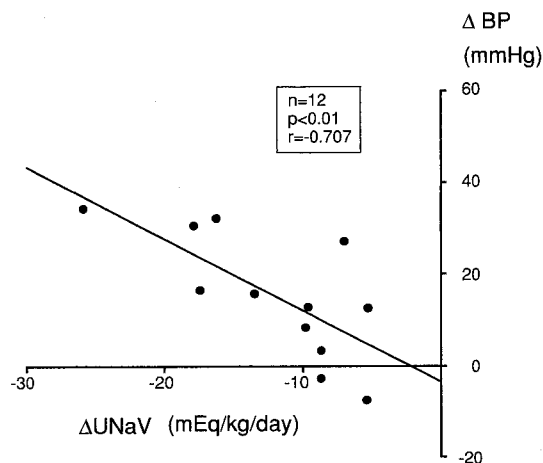


Fig. 6 Correlation between the change of urinary sodium excretion (UNaV) and that of blood pressure (BP) in indomethacin (Indo) administration study in 4/6 reduced renal mass rats (RRM). A significant negative correlation was found between both parameters ($p < 0.01$) after 2 weeks treatment of Indo or vehicle in 4/6 RRM.

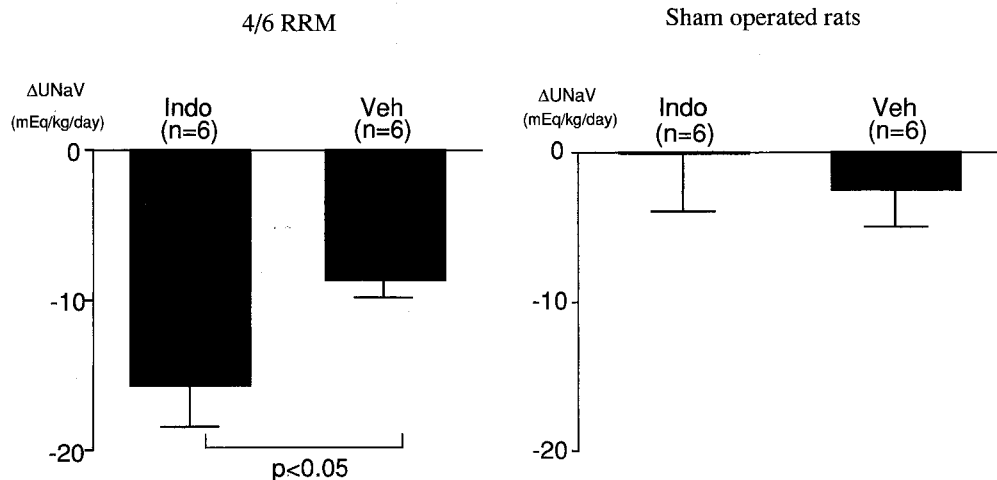


Fig. 5 The change of urinary sodium excretion (UNaV) by 2 weeks treatment of indomethacin (Indo) or vehicle (Veh) in 4/6 reduced renal mass rats (RRM) and sham operated rats. The change of UNaV was significantly larger ($p < 0.05$) in 4/6 RRM with Indo than that in 4/6 RRM with Veh.

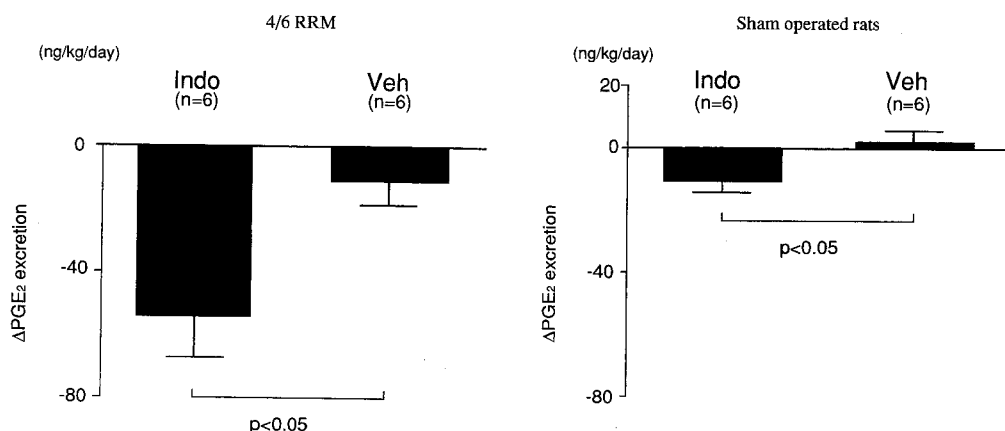


Fig. 7 The change of urinary PGE₂ excretion by 2 weeks treatment of indomethacin (Indo) or vehicle (Veh) in 4/6 reduced renal mass rats (RRM) and sham operated rats. The change of urinary PGE₂ excretion was significantly larger ($p<0.05$) in 4/6 RRM with Indo than in 4/6 RRM with Veh. In sham operated group, the change of urinary PGE₂ excretion was significantly larger ($p<0.05$) in Indo treated group than in Veh group.

に比し有意 ($p<0.05$) に大であった。偽手術群においても、PGE₂ 排泄はインドメサシン投与により 12.4 ± 3.6 ng/kg/日から投与後 1.8 ± 0.3 ng/kg/日と、明らか ($p<0.05$) な抑制が認められたが、vehicle 投与時には 13.3 ± 2.1 ng/kg/日から 15.7 ± 4.7 ng/kg/日と有意な変化とはならなかった。また、偽手術群においてもインドメサシン投与時の尿中 PGE₂ 排泄量の変化は -10.6 ± 3.6 ng/kg/日と、vehicle 投与時の 2.3 ± 3.5 ng/kg/日に比し有意 ($p<0.05$) に大であった (Fig. 7)。

3・2・5 4/6 腎摘群における尿中 PGE₂ 排泄量と、尿中 Na 排泄量の変化量及び血圧値の変化度の相関

4/6 腎摘群におけるインドメサシン投与 2 週間後の尿中 PGE₂ 排泄量の変化量と、尿中 Na 排泄量の変化量の相関を Fig. 8 左に、また、前者と血圧値の変化度の関係を Fig. 8 右に示す。尿中 PGE₂ 排泄量の変化量と尿中 Na 排泄量の変化量の間には有意 ($r=0.801$, $p<0.01$) な正の、尿中 PGE₂ 排泄量の変化量と血圧値の

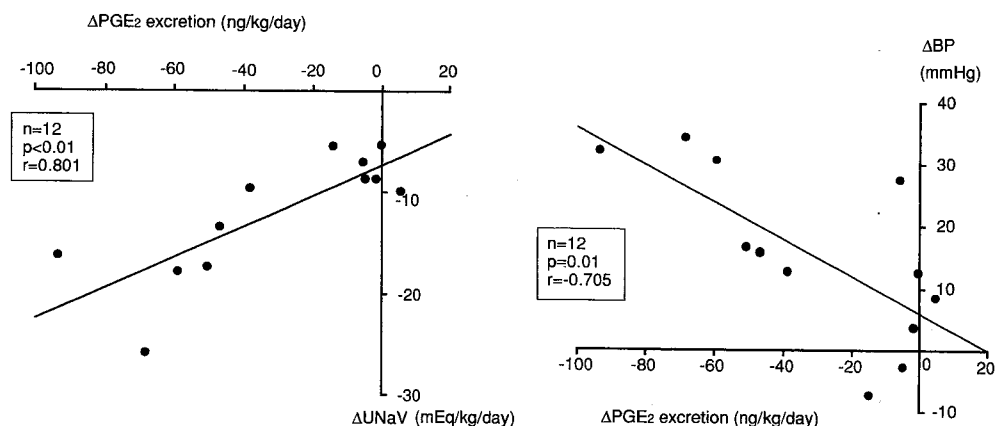


Fig. 8 Correlations between the change of urinary PGE₂ excretion and that of urinary sodium excretion (UNaV) (left panel) or the blood pressure (BP) (right panel) in indomethacin (Indo) administration study in 4/6 reduced renal mass rats (RRM). There were a significant positive correlation ($p<0.01$) between the change of urinary PGE₂ excretion and that of UNaV, and a significant negative correlation ($p=0.01$) between the change of urinary PGE₂ excretion and that of BP after 2 weeks treatment of Indo or vehicle in 4/6 RRM.

変化度の間には有意 ($r = -0.705$, $p = 0.01$) な負の相関がそれぞれ認められた。

4 考 案

本態性高血圧症に関しては、これまで数多くの研究がすすめられてきたが、今なお成因は明らかでない。Dahl ら¹⁷⁾ は、Na 負荷により血圧上昇を認める遺伝的高血圧ラットと、血圧上昇を認めないラットとを *parabiosis* すると、後者にも昇圧が認められることから、未知ではあるが血圧上昇に関与する Na 利尿ホルモンが存在する可能性を報告した。その後 Haddy 一派^{18,19)} は、1 腎性 Goldblatt 型高血圧ラットや DOCA-salt 高血圧ラットなどの実験的高血圧動物で、心・血管系の Na-K-ATPase が抑制されていることを明らかにし、Na 利尿ホルモンが Na-K-ATPase 抑制を介して Na 利尿、末梢血管抵抗増大に関わる可能性を示唆した。同様の仮説は deWardener & MacGregor²⁰⁾ によっても提唱されている。以降、血中や尿中で、この Na 利尿ホルモンを同定しようと多くの試みがなされ、最近では、ヒトの血液や尿からも Na-K-ATPase の阻害作用を有する Na 利尿物質が抽出され、報告²¹⁻²³⁾ されるようになった。我々は、本態性高血圧症で、血中 EDLF が高値を示し、その増加は、体液・Na 貯留の顕著な低レニン群で著しいこと⁹⁾ を確認し、本態性高血圧症の成因や病態形成に関わる EDLF の役割の重要性を推測してきた。このような観点から、体液貯留型高血圧の実験モデルとして、段階的腎摘ラットを作製し、高血圧の発症に関わる EDLF や腎性降圧系の役割を検討した。その結果、5/6 腎摘ラットの昇圧機転に持続的な EDLF の増加が関与し、腎性降圧系である PGE_2 はむしろ代償的に亢進していることを明らかにした⁹⁾。そこで今回は、腎の Na 排泄能の障害は有するが、昇圧に至らない 4/6 腎摘ラットを用いて、Na-K-ATPase の阻害物質であるウアバインの負荷や、 PGE_2 の産生抑制がいかに血圧に影響を及ぼすかを検討した。

4.1 4/6 腎摘ラットへのウアバイン投与の結果

4/6 腎摘のみでは、既報^{7,8,11)} のように、食塩負荷による血圧の上昇は認められなかった。しかし、4/6 腎摘+ウアバイン群においては、食塩負荷後、血圧は前値に比し有意に上昇し、4/6 腎摘+vehicle 群に比しても有意な高値を示した。つまり、ウアバインは 4/6 腎摘ラットの血圧を有意に上昇させる事が判明した。この事実は、腎 Na 排泄障害の程度が弱く、持続的 EDLF 上昇を認めない 4/6 腎摘ラットにおいても、外因性にウアバインを投与すると血圧が上昇することを示している。

さらには、5/6 腎摘ラットの昇圧が、持続的 EDLF の上昇によることを強く示唆する成績ともいえる。この昇圧機序としては、持続的 Na-K-ATPase 抑制により、血管平滑筋の細胞内 Na が上昇し、それが Na-Ca 交換系の抑制を介する細胞内 $\text{Ca}^{24,25)}$ の上昇を促し、末梢血管抵抗の増大を生じたためと推測される。また、細胞内 Ca 上昇は、交感神経末端のノルエピネフリンの放出促進と、再摂取抑制^{26,27)} を惹起するゆえ、これらもその昇圧機転の一部に関わる可能性が考えられる。

次に、尿中 Na 排泄量の推移についてみると、在来の研究では、1% 食塩水飲水開始後、4/6 腎摘群では尿中 Na 排泄の一時的な著増と、1 週目からこの増加の漸減が認められている。一方、5/6 腎摘群では Na 排泄量の増加後、このような漸減はなく、1% 食塩水飲水 2 週目以降の Na 排泄量は、4/6 腎摘群より有意に大であった^{7,8)}。今回の成績でも 4/6 腎摘+vehicle 群では、vehicle 投与の 2 週間で尿中 Na 排泄は有意に減少した。しかし、4/6 腎摘+ウアバイン群では、5/6 腎摘群で認められたと同様に、Na 排泄量は減少せず、4/6 腎摘+vehicle 群に比し有意な高値を維持していた (Fig. 2)。これは、外因性のウアバインが Na-K-ATPase 活性の抑制を介し、腎での Na 利尿を増強したためと考えられた。また、ウアバイン、vehicle 投与両群を含む 4/6 腎摘群及び偽手術群では、尿中 Na 排泄量と血圧値の間に有意な正の相関が認められ (Fig. 3)、ウアバインが Na 利尿、昇圧の両面に作用している可能性がうかがわれた。このように、段階的腎摘高血圧ラットの昇圧機序には、腎の Na 排泄障害を基盤とした持続的 EDLF 上昇が重要な機転となることが、この投与実験により明らかにされた。またこの事実は、本態性高血圧症、とりわけ低レニン群の発症や病態の維持に、EDLF が強く関与する可能性を示唆するものと考えられた。

4.2 部分的腎摘ラットにおける腎 PG 系の役割

食塩負荷のみでは昇圧しない 4/6 腎摘群では、インドメサシンを投与することにより、インドメサシン投与前に比し有意な血圧上昇が認められた。さらに、この動物へのインドメサシン投与 2 週後の血圧値は他の 3 群に比し有意な高値を示した (Fig. 4)。加えて、血圧の上昇度と、尿中 PGE_2 排泄の間には、有意な負の相関が認められた (Fig. 8)。教室既報の成績⁹⁾ では、4/6 腎摘ラットの尿中 PGE_2 排泄量は、偽手術群に比し有意に増加しており、腎摘による Na 貯留に対して代償的、防御的に作用しているものと推測されている。そして、今回の実験成績に示されるように、その代償的増加を cyclooxygenase inhibitor で抑制すると血圧は明らか

に上昇する。このことは、 PGE_2 による代償機構を破綻させることにより、血圧が上昇したものと考えられ、 PGE_2 の昇圧に対する代償機構の存在を、より明確に証明しえた成績と考えられる。

一方、4/6 腎摘群では、インドメサシン投与時の尿中 Na 排泄量の変化量 (ΔUNaV) と、尿中 PGE_2 排泄量の変化量 (ΔPGE_2) との間に有意な正相関が認められ (Fig. 8)、尿中 Na 排泄の減少が、少なくとも一部、インドメサシンによる PGE_2 の産生抑制によることが強く示唆された。尿中 Na 排泄量に対する腎の PGE_2 抑制の影響については、腎の PGE_2 産生が亢進する虚血腎^{28,29)} や片側尿管結紮ラット³⁰⁾ でも報告され、 PGE_2 の抑制が腎血流量や糸球体濾過率の低下をきたすといわれる。4/6 腎摘ラットでも、同様の機序を介し、Na 貯留に関わるものと考えたい。またこの尿中 Na 排泄量の変化量 (ΔUNaV) と血圧上昇度 (ΔBP) との間には有意な負の相関が認められ (Fig. 6)、インドメサシンによる PGE_2 産生抑制は、Na 貯留を介して血圧上昇にも強く関与する可能性が示唆された。ただし、血管壁の PG 系の抑制による末梢血管抵抗の増大^{31,32)} や、腎での cyclooxygenase 抑制の結果二次的に生ずる cytochrome P450 monooxygenase 系の亢進が、19-HETE などの代謝産物³³⁻³⁶⁾ の増加を介して、昇圧に関与する可能性も否定はできない。一方、偽手術群では、インドメサシン投与群と vehicle 投与群の間に、血圧及び尿中 Na 排泄量の差は認められなかった。この結果は他の報告^{37,38)} にも同様に述べられており、偽手術群では、腎 PGE_2 の抑制を他の因子で代償しうるだけの予備能があるためと考えられた。

以上、今回得られた成績は、4/6 腎摘ラットに認められた腎 PGE_2 の増加が、その Na 貯留、昇圧に対し、防御的、代償的に作用する可能性をいっそう明確に支持するものと考えられた。

5 結 語

段階的腎摘高血圧ラットの昇圧機転に関わる EDLF 及び腎 PG 系の役割を解明するため、4/6 腎摘ラットと偽手術群を作製し、ウアバインまたはインドメサシンを投与し、血圧、尿中 Na 排泄量の推移を検討した。またインドメサシン投与群では尿中 PGE_2 排泄量を計測し、以下の成績を得た。

(1) 正常血圧を示す 4/6 腎摘ラットへウアバインを投与すると、前値及び 4/6 腎摘+vehicle 群、偽手術群に比し、有意な血圧の上昇が認められた。尿中 Na 排泄量は 4/6 腎摘+ウアバイン群が vehicle 投与群に比し有

意な持続的増加を示した。また、尿中 Na 排泄量と血圧値の間には有意な正相関が認められた。このように 4/6 腎摘ラットでは、外因性に持続投与されたウアバインによる、Na-K-ATPase 活性抑制が、Na 利尿を引き起こす一方、昇圧をもたらすものと考えられた。すなわち、部分的腎摘が高度となった高血圧ラットでは、持続的な EDLF の増加が、その昇圧と Na 利尿に強く関与する可能性が推測された。

(2) 4/6 腎摘ラットにインドメサシンを反復投与すると、前値及び 4/6 腎摘+vehicle 群や偽手術群に比し、有意な血圧の上昇が認められた。また、尿中 PGE_2 排泄量の変化量と血圧値の変化度の間には有意な負の相関が認められた。さらに、4/6 腎摘群では尿中 PGE_2 排泄量の変化量と尿中 Na 排泄量の変化量の間にも有意な正相関が認められ、前者と血圧値の変化度の間には有意な負の相関が認められた。

以上、腎摘のみでは昇圧を示さない 4/6 腎摘ラットに、ウアバインもしくはインドメサシンを投与すると、前者では Na 利尿と昇圧を、後者では Na 利尿の抑制と昇圧を発現した。この成績は、既に報告した 5/6 腎摘ラットで認められた、持続的 EDLF の増加が、その高血圧の発症や、維持に重要な役割を果たすと同時に、同群でみられる腎 PG 系の産生亢進は、その Na 貯留、昇圧に対する代償の亢進であることを、いっそう強く支持する所見と考えた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を頂いた内科学第 2 講座 飯村 攻教授に深謝し、併せて本研究に御協力頂いた教室員各位に感謝いたします。

文 献

1. Iimura O. Pathophysiological significance of sympathetic function in essential hypertension. Clin Exp Hypertens 1989, A11 (Suppl. 1): 103-115.
2. Iimura O, Shimamoto K, Ura N, Nakagawa M, Nishimiya T, Ando T, Yamaguchi Y, Masuda A, Ogata H, Saitoh S, Yamaji I, Fukuyama S. The pathophysiological role of renal dopamine, kallikrein-kinin and prostaglandin systems in essential hypertension. Agents Actions 1987, 22: 247-256.
3. Haddy FJ, Overbeck HW. The role of humoral agents in volume expanded hypertension. Life Sci 1976, 19: 935-947.

4. Poston L, Sewell RB, Wilkinson SP, Richardson PJ, Williams R, Clarkson EM, MacGregor GA, deWardener HE. Evidence for a circulating sodium transport inhibitor in essential hypertension. *Br Med J* 1981, 282: 847-849.
5. MacGregor GA, Fenton S, Alaghband-Zadeh J, Markandu N, Roulston JE, deWardener HE. Evidence for a raised concentration of a circulating sodium transport inhibitor in essential hypertension. *Br Med J* 1981, 283: 1355-1357.
6. Saitoh S, Shimamoto K, Nakagawa M, Yamaguchi Y, Matsuda K, Kuroda S, Ura N, Iimura O. The pathophysiological role of digitalis-like substance in essential hypertension. *J Hypertens* 1988, 6 (Suppl 4): S360-S362.
7. Shimamoto K, Nakagawa H, Nakagawa M, Saitoh S, Satoh S, Iimura O. Endogenous digitalis-like substance and renal dopaminergic system in reduced renal mass hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens* (in press).
8. Shimamoto K, Iimura O. The renal kallikrein-kinin system at the prehypertensive stage of hypertension. *Agents Actions* 1992, 38 (Suppl III): 287-293.
9. Dunn MJ, Zambraski EJ. Renal effects of drugs that inhibit prostaglandin synthesis. *Kidney Int* 1980, 18: 609-622.
10. Jabs K, Zeidel ML, Silva P. Prostaglandin E_2 inhibits $Na^+-K^+-ATPase$ activity in the inner medullary collecting duct. *Am J Physiol* 1989 257: F424-F430.
11. Nakagawa M, Shimamoto K, Matsuda K, Saitoh S, Nakagawa H, Ura N, Iimura O. The transient increase of urinary digitalis-like substance excreted during excess sodium intake in reduced renal mass rats. *Am J Hypertens* 1990, 3: 873-875.
12. Manunta P, Hamilton BP, Rogowski AC, Puce E, Hamlyn JM. Ouabain hypertensive rats (OHR): A new model of chronic hypertension. *J Hypertens* 1992, 10 (Suppl 4): S79.
13. Rhee HM, Dutta S, Marks BH. Cardiac NaK $ATPase$ activity during positive inotropic and toxic actions of ouabain. *Eur J Pharmacol* 1976, 37: 141-153.
14. Hui R, Grose JH, Lebel M, Falardeau P. Prostanoids and aldosterone-induced mild experimental hypertension in rats. *Hypertension* 1990, 15: 198-203.
15. Hui R, Falardeau P. Resistance of the renal biosynthesis of prostaglandin E_2 to the inhibitory effect of indomethacin in the rat in vivo. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1990, 41: 83-87.
16. Kelly RW, Graham BJM, O'Sullivan MJ. Measurement of PGE_2 as the methyl oxime by radioimmunoassay using a novel iodinated label. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1989, 37: 187-191.
17. Dahl LK, Knudsen KD, Iwai J. Humoral transmission of hypertension: Evidence from parabiosis. *Circ Res* 1969, 24 (Suppl I): I-21-I-33.
18. Pamnani M, Hout S, Buggy J, Clough D, Haddy F. Demonstration of a humoral inhibitor of the Na^+-K^+ pump in some models of experimental hypertension. *Hypertension* 1981, 3 (Suppl II): II-96-II-101.
19. Pamnani MB, Clough DL, Haddy FJ. Altered activity of the sodium-potassium pump in arteries of rats with steroid hypertension. *Clin Sci Mol Med* 1978, 55: 41s-43s.
20. deWardener HE, MacGregor GA. Dahl's hypothesis that saluretic substance may be responsible for a sustained rise in arterial pressure: Its possible role in essential hypertension. *Kidney Int* 1980, 18: 1-9.
21. Goto A, Yamada K, Ishii M, Yoshioka M, Ishiguro T, Eguchi C, Sugimoto T. Purification and characterization of human urine-derived digitalis-like factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1988, 154: 847-853.
22. Hamlyn JM, Blaustein MP, Bova S, DuCharme DW, Harris DW, Mandel F, Mathews WR, Ludens JH. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88: 6259-6263.
23. Kimura K, Shima H, Tsuda K, Tanigawa K, Nishio I. Purification of endogenous digitalis-like factor and its contribution to hypertension. *J Hypertens* 1992, 10 (Suppl 4): S128.
24. Bova S, Goldman WF, Yuan X-J, Blaustein MP. Influence of the Na^+ gradient on Ca^{2+} transients and contraction in vascular smooth muscle. *Am J Physiol* 1990, 259: H409-H423.
25. Woolfson RG, Hilton PJ, Poston L. Effects of ouabain and low sodium on the contractility of human resistance arteries. *Hypertension* 1990, 15: 583-590.
26. Blaustein MP, Hamlyn JM. Sodium transport inhibition, cell calcium, and hypertension: The natriuretic hormone/ Na^+-Ca^{2+} exchange/hypertension hypothesis. *Am J Med* 1984, 77: 45-59.

27. Magyar K, Nguyen TT, Török TL, Tóth PT. [³H] Noradrenaline release from rabbit pulmonary artery: Sodium-pump-dependent sodium-calcium exchange. *J Physiol (Lond)* 1987, 393: 29-42.
28. Herbaczynska-Cedro K, Vane JR. Prostaglandins as mediators of reactive hyperaemia in kidney. *Nature* 1974, 247: 492.
29. Spielman WS, Osswald H. Characterization of the postocclusive response of renal blood flow in the cat. *Am J Physiol* 1978, 235: F286-F290.
30. Ichikawa I, Brenner BM. Local intrarenal vasoconstrictor-vasodilator interactions in mild partial ureteral obstruction. *Am J Physiol* 1979, 236: F131-F140.
31. Malik KU, Ryan P, McGiff JC. Modification by prostaglandin E₁ and E₂, indomethacin, and arachidonic acid of the vasoconstrictor responses of the isolated perfused rabbit and rat mesenteric arteries to adrenergic stimuli. *Circ Res* 1976, 39: 163-168.
32. Falardeau P, Martineau A. In vivo production of prostaglandin I₂ in Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. *Hypertension* 1983, 5: 701-705.
33. Schwartzman M, Ferreri NR, Carroll MA, Songu-Mize E, McGiff JC. Renal cytochrome P450-related arachidonate metabolite inhibits (Na⁺+K⁺) ATPase. *Nature* 1985, 314: 620-622.
34. Sacerdoti D, Abraham NG, McGiff JC, Schwartzman ML. Renal cytochrome P-450-dependent metabolism of arachidonic acid in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Pharmacol* 1988, 37: 521-527.
35. Escalante B, Erlj D, Falck JR, McGiff JC. Effect of cytochrome P450 arachidonate metabolites on ion transport in rabbit kidney loop of Henle. *Science* 1991, 251: 799-802.
36. McGiff JC, Carroll MA, Escalante B. Arachidonate metabolites and kinins in blood pressure regulation. *Hypertension* 1991, 18 (Suppl III): III-150-III-157.
37. Susic D, Sparks JC. Effects of aspirin on renal sodium excretion, blood pressure, and plasma and extracellular fluid volume in salt loaded rats. *Prostaglandins* 1975, 10: 825-831.
38. Kirschenbaum MA, Stein JH. The effect of prostaglandin inhibition on sodium excretion during expansion of the extracellular fluid volume. *J Lab Clin Med* 1977, 90: 46-56.

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学内科学第2講座 大本泰裕